

СТВОРЕННЯ РЕПОЗИТОРІЯ МОДЕЛЕЙ ПРОСТОРОВОЇ СТРУКТУРИ ТУБУЛІНІВ ЯК РЕАЛІЗАЦІЯ ОДНОГО ІЗ СТРАТЕГІЧНИХ ЗАВДАНЬ ВІРТУАЛЬНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ CSLabGrid

Цитоскелет – високодинамічна структура клітин, функціонування якої забезпечує процеси мітозу, мейозу, цитокінезу, підтримки й адаптації форми клітин, екзо- та ендоцитоз, рух клітини, активний транспорт тощо [1, 2]. Завдяки здатності тубуліну специфічним чином зв'язувати низькомолекулярні сполуки різної природи мікротрубочки є відповідальними за реакцію еукаріотичних клітин на дію різноманітних хімічних чинників [3, 4]. Саме тому α - і β -субодиниці тубуліну є важливими мішенями для широкого спектра комерційно значущих препаратів, що використовуються як протипухлинні, фунгіцидні, гербіцидні, антипротозойні, протигельмінтні засоби.

Для вирішення обчислювальних задач із дослідження цитоскелету у 2011 р. на основі Грід-вузлу Державної установи «Інституту харчової біотехнології і геноміки НАН України» була створена віртуальна організація (ВО)/лабораторія CSLabGrid (<http://ifbg.org.ua/uk/cslabgrid>) [5, 6]. Ця ВО займається розв'язанням наукових та прикладних завдань у галузі дослідження цитоскелету, які потребують спільних зусиль і значних обчислювальних ресурсів як для методів біології *in silico* (структурна біологія, біоінформатика та біофізика), так і для завдань, пов'язаних із використанням сучасних інструментальних методів дослідження, що також потребують ресурсоємної обробки первинних даних та/або створення доступних (у межах віртуальної організації) баз даних для зберігання оброблених результатів.

У межах віртуальної організації було також створено базу даних CSMoDB (CytoSceleton protein MODeLLing DataBase; <http://csmodb.ifbg.org.ua/comodore/index.php>) [7], яка містить репозиторії 3D-моделей ряду цитоскелетних білків (тубулінів, білків, асоційованих з мікротрубочками (БМів), філаментних температурочутливих

Z-білків (FtsZ) тощо), а також просторових структур канонічних антимікротрубочкових речовин, придатну для подальшого використання в експериментах, що виконуються в рамках спільних досліджень учасників ВО CSLabGrid. Наповнення цієї бази даних інформацією щодо структур молекул тубулінів різного походження сприятиме прискоренню пошуку та відбору розробок нових сполук з антимікротрубочковою активністю.

Матеріали і методи

У результаті аналізу онлайн бази даних «UniProtKB» [8] було відібрано наявні в ній на момент пошуку повні первинні послідовності α -, β -, та γ -тубулінів як модельних організмів, так і паразитичних простіших та круглих і плоских червів.

Так, було вибрано 128 послідовностей α -тубулінів, які належать окремим представникам таких родів, як *Ancylostoma*, *Ascaris*, *Candida*, *Chlamydomonas*, *Clonorchis*, *Cooperia*, *Dictyocaulus*, *Echinococcus*, *Emericella*, *Encephalitozoon*, *Entamoeba*, *Fasciola*, *Haemonchus*, *Homo*, *Hymenolepis*, *Lepidoglyphus*, *Loa*, *Naegleria*, *Necator*, *Neospora*, *Oesophagostomum*, *Onchocerca*, *Ostertagia*, *Plasmodium*, *Pneumocystis*, *Pristionchus*, *Schistosoma*, *Spirometra*, *Strongyloides*, *Toxocara*, *Toxoplasma*, *Trichinella*, *Trichuris*, *Trypanosoma*, *Wuchereria*.

Також було відібрано 197 послідовностей β -тубулінів, що належать представникам родів *Ajellomyces*, *Ancylostoma*, *Ascaris*, *Babesia*, *Brugia*, *Candida*, *Chlamydomonas*, *Clonorchis*, *Cooperia*, *Coronocyclus*, *Cyathostomum*, *Cylicocyclus*, *Cylicostephanus*, *Dictyocaulus*, *Dirofilaria*, *Echinococcus*, *Emericella*, *Encephalitozoon*, *Fasciola*, *Giardia*, *Haemonchus*, *Homo*, *Hymenolepis*, *Leishmania*, *Loa*, *Moniezia*, *Necator*, *Neosartorya*, *Oesophagostomum*, *Onchocerca*, *Ostertagia*, *Parascaris*, *Plasmodium*,

Pneumocystis, Pristionchus, Schistosoma, Spirometra, Strongyloides, Teladorsagia, Toxocara, Toxoplasma, Trichinella, Trichostrongylus, Trichuris, Trypanosoma,

Було відібрано також лише 36 γ -тубулінів із представників родів *Ancylostoma, Ascaris, Brugia, Candida, Chlamydomonas, Dictyocaulus, Echinococcus, Emericella, Encephalitozoon, Entamoeba, Haemonchus, Homo, Loa, Necator, Oesophagostomum, Onchocerca, Opisthorchis, Plasmodium, Pristionchus, Schistosoma, Strongyloides, Toxocara, Trichinella, Trichuris* та *Wuchereria*.

Моделювання тривимірних (3D) структур цих білків тубулінів було здійснено за допомогою онлайн-серверу I-TASSER [9], що призначений для передбачення структури і функції білків. Для всіх даних моделей було проведено оптимізацію їхньої геометрії в силовому полі amber03.

Результати та обговорення

Для заповнення репозиторія тубулінів бази даних CSMoDB ВО CSLabGrid моделями цитоскелетних білків у неї було внесено інформацію щодо α -тубулінів, з яких 73 належать паразитичним круглим червам, зокрема, таким видам, як *Ascaris suum, Toxocara canis, Pristionchus pacificus, Strongyloides ratti, Ancylostoma ceylanicum, A. duodenale, Necator americanus, Oesophagostomum dentatum, Cooperia oncophora, Dictyocaulus viviparous, Haemonchus contortus, Ostertagia ostertagi, Loa loa, Onchocerca volvulus, Wuchereria bancrofti, Trichuris suis, T. trichiura, Trichinella spiralis*; 32 – паразитичним плоским червам *Echinococcus granulosus, E. multilocularis, Hymenolepis diminuta, H. microstoma, Spirometra erinaceieuropaei, Fasciola hepatica, Clonorchis sinensis, Schistosoma haematobium, S. japonicum, S. mansoni*; 10 тваринам, зокрема, 8 тубулінів людини та ще два належать *Lepidoglyphus destructor*; 8 тубулінів належать простішим *Trypanosoma brucei rhodesiense, T. cruzi, Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Plasmodium falciparum, P. yoelii, Naegleria gruberi, Entamoeba histolytica*; 4 тубуліни – грибам *Candida albicans, Emericella nidulans, Encephalitozoon cuniculi, Pneumocystis carinii* та 1 тубулін – водорості *Chlamydomonas reinhardtii*.

Зі 197 β -тубулінів, внесених у репозиторій, 127 3D-моделей тубулінів належать паразитичним круглим червам *Ascaris suum, Parascaris equorum, Toxocara canis, Pristionchus pacificus, Strongyloides*

des papillosus, Strongyloides ratti, Strongyloides stercoralis, Ancylostoma caninum, A. ceylanicum, A. duodenale, Necator americanus, Oesophagostomum dentatum, Coronocyclus coronatus, Cyathostomum catinatum, C. pateratum, Cylicocyclus elongates, C. insigne, C. nassatus, Cylicocyclus radiates, Cylicostephanus goldi, C. longibursatus, Cooperia oncophora, C. pectinata, Dictyocaulus viviparous, Haemonchus contortus, Ostertagia ostertagi, Teladorsagia circumcincta, Trichostrongylus colubrifomis, Brugia malayi, B. pahangi, Dirofilaria immitis, Loa loa, Onchocerca volvulus, O. gibsoni, Trichuris trichiura, Trichinella spiralis; 43 тубуліни – паразитичним плоским червам *Echinococcus granulosus, E. multilocularis, Moniezia expansa, Hymenolepis microstoma, Spirometra erinaceieuropaei, Fasciola hepatica, Clonorchis sinensis, Schistosoma haematobium, S. japonicum, S. mansoni*; 9 тубулінів є людськими, а ще 9 належать простішим *Giardia intestinalis, Leishmania mexicana, Trypanosoma brucei rhodesiense, T. cruzi, Toxoplasma gondii, Babesia bovis, Plasmodium falciparum*; 8 тубулінів належать грибам *Neosartorya fumigata, Ajellomyces capsulatus, Candida albicans, Emericella nidulans, Encephalitozoon cuniculi, E. hellem, E. intestinalis* та *Pneumocystis carinii*, а 1 тубулін – *Chlamydomonas reinhardtii*.

Серед 36 γ -тубулінів, задепонованих у CSMoDB, 20 білків належать паразитичним круглим червам, зокрема, таким видам, як *Ascaris suum, Toxocara canis, Pristionchus pacificus, Strongyloides ratti, Ancylostoma ceylanicum, Necator americanus, Oesophagostomum dentatum, Dictyocaulus viviparus, Haemonchus contortus, Brugia malayi, Loa loa, Onchocerca volvulus, Wuchereria bancrofti, Trichuris suis, Trichinella spiralis*; 7 – паразитичним плоским червам *Echinococcus granulosus, E. multilocularis, Opisthorchis viverrini, Schistosoma haematobium, S. japonicum* та *S. mansoni*; 2 тубуліни є людськими; 4 тубуліни з грибів *Candida albicans, C. glabrata, Emericella nidulans, Encephalitozoon cuniculi*; 2 білкові структури належать найпростішим *Plasmodium falciparum* та *Entamoeba histolytica*, а 1 тубулін – водорості *Chlamydomonas reinhardtii*.

У результаті внесення інформації щодо відповідних послідовностей тубулінів та депонування в форматі *pdb безпосередньо файлів тривимірних структур вищевказаних білків у базу даних CSMoDB ВО CSLabGrid було сформовано відповідний інтерфейс доступу, фрагмент якого

CSMoDB
CytoSkeleton protein
MOdelling DataBase

Models DB Parameters API Logout
Models Ligands

List sorting

Type:	Object:	Organism:	Classification:	Authors:	Uniprot:	Ligands:
exp mod	EB EB1 tubulin	Ajellomyces capsulatus Ancylostoma caninum Ancylostoma ceylanicum Ancylostoma duodenale Aquifex aeolicus (strain VF5)	Cytoskeleton EB EB1 FtsZ Kinesin	Accelerated Technologies Center for Gene to 3D Structure (ATCG) Awale, S.T. Alfonso, C. Allegro, D. Amos, L.A.	A0A016SYM3 A0A016SZV7 A0A016UP54 A0A016WZQ2 A0A024N128	D1G ACP ACT ADP ANP

Sort by: Update date Resolution Mol Probiy Score Percentile Discard sorting

TsTA11_0 (93) 91 theoretical	Tubulin alpha-1 chain	Authors: Demchuk O.M.	Classification: Tubulin, Microtubules, Cytoskeleton	Released/Updated: 2015-11-05 / 2015-11-05
Download: Coordinates		Experiment: I-Tasser Homology modelling	Compound: 1 Polymer	Organisms: Trichinella spiralis
AsTA22_0 (94) 92 theoretical	Tubulin alpha-2 chain, var 2	Authors: Demchuk O.M.	Classification: Tubulin, Microtubules, Cytoskeleton	Released/Updated: 2015-11-05 / 2015-11-05
Download: Coordinates		Experiment: I-Tasser Homology modelling	Compound: 1 Polymer	Organisms: Ascaris suum
AsTA23_0 (95) 93 theoretical	Tubulin alpha-2 chain, var 3	Authors: Demchuk O.M.	Classification: Tubulin, Microtubules, Cytoskeleton	Released/Updated: 2015-11-05 / 2015-11-05
Download: Coordinates		Experiment: I-Tasser Homology modelling	Compound: 1 Polymer	Organisms: Ascaris suum

Рис. Фрагмент інтерфейсу бази даних BO CSLabGrid із внесеними 3D-моделлями тубулінів

показаний на рис. Цей інтерфейс значно спрощує зареєстрованим членам BO CSLabGrid доступ до конкретних об'єктів серед значної кількості змодельованих цитоскелетних білків, оскільки обладнаний пошуком як за видовою назвою організму, так і за Uniprot-кодом первинної послідовності відповідного білка.

Висновки

Наповнення бази даних CSMoDB інформацією щодо тривимірних структур таких цитоскелетних білків, як тубуліни, з різних таксономічних груп як паразитичних організмів, так і модельних об'єктів полегшує доступ до такої інформації усіх членів BO CSLabGrid. Це в свою

чергу пришвидшуватиме вирішення наукових та прикладних завдань у галузі дослідження цитоскелету, зокрема, пошук і відбір нових сполук з антимікротрубочковою активністю для подальшого їх застосування як протипухлинних, фунгіцидних, гербіцидних, антипротозойних та протигельмінтних засобів.

Ця робота виконувалася за підтримки Державної цільової науково-технічної програми впровадження і застосування Грід-технологій Національного Українського Грїда (УНГ, <http://grid.nas.gov.ua>) та проектів комплексної програми наукових досліджень НАН України «Грід-інфраструктура і Грід-технології для наукових і науково-прикладних застосувань» (2014–16 pp.).

ЛІТЕРАТУРА

1. Vignaud T., Blanchoin L., Théry M. Directed cytoskeleton self-organization // Trends Cell Biol. – 2012. – 22, № 12. – P. 671–682.
2. Eren E.C., Gautam N., Dixit R. Computer simulation and mathematical models of the noncentrosomal plant cortical microtubule cytoskeleton // Cytoskeleton (Hoboken). – 2012. – 69, № 3. – P. 144–154.
3. Sui M., Zhang H., Di X., Chang J., Shen Y., Fan W. G2 checkpoint abrogator abates the antagonistic interaction between antimicrotubule drugs and radiation therapy // Radiother. Oncol. – 2012. – 104, № 2. – P. 243–248.
4. Zhao Y., Wu F., Wang Y., Chen S., Han G., Liu M., Jin D. Inhibitory action of chamaejasmin A against human HEP-2 epithelial cells: effect on tubulin protein // Mol. Biol. Rep. – 2012. – 39, № 12. – P. 11105–11112.
5. Pydiura N., Karpov P., Blume Ya. Design of specific cytoskeleton related biological database and data management environment for bioinformatical cytoskeleton investigation and collaboration within virtual Grid-organisation // Proc.of the Int. Moscow Conference on Computational Molecular Biology (MCCMB'11), July 21 – 24 2011. – Moscow, Russia, 2011. – P. 297–298.
6. Карпов П.А., Брицун В.М., Раєвський О.В., Демчук О.М., Пидюра М.О., Ожередов С.П., Самофалова Д.О., Співак С.І., Смець А.І., Кальченко В.І., Блюм Я.Б. Високопропускний скринінг речовин з анти мітотичною активністю на базі віртуальної організації CSLabGrid // Наука та інновації. – 2015. – 11, № 1. – С. 92–100.
7. Pydiura N., Karpov P., Blume Y. COMODORE: a web system for high-throughput computational investigations in Grid environment // On-line Proc. of the 9th Int. Symposium on Integrative Bioinformatics 2013. Ed. by F. Schreiber F., Hofestädt R., Lange M., Scholz U., Czauderna T., Schnee R. and Weise S, 18–20 March 2013. – Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany, 2013. – P. 190–191.
8. The UniProt Consortium. UniProt: a hub for protein information // Nucl. Acids Res. – 2015. – 43 (D1). – P. D204–D212.
9. Roy A., Kucukural A., Zhang Y. I-TASSER: a unified platform for automated protein structure and function prediction // Nat. Protoc. – 2010. – 5, № 4. – P. 725–738.

DEMCHUK O.M., KARPOV P.A., OZHEREDOV S.P., SPIVAK S.I., SAMOFALOVA D.O., PYDIURA M.O., BLUME YA.B.

Institute of Food Biotechnology and Genomics of Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Osipovs'kogo str., 2^a, e-mail: demom79@gmail.com

THE REPOSITORY OF TUBULIN 3D-MODELS AS THE CENTRAL MILESTONE OF VO CSLabGrid PROJECT

Aim. CSMoDB database was created as a part of virtual organization (VO) CSLabGrid, to store and manage cytoskeleton proteins three-dimensional models (tubulin, MAPs, FtsZ etc.), as well as to store 3D-models of canonical anti-microtubular agents. The main task of the database is to be a pool of structural models, for virtual molecular screening, molecular docking and rational anti-microtubule drugs design in the frame of CSLabGrid projects. **Methods.** The majority of deposited protein models were constructed using I-TASSER server and I-TASSER tool integrated directly in VO environment. **Results.** 3-D models of tubulin molecules were deposited in *.pdb format. All deposited structures are supplemented by information on the deposition date, modeling method and the author of current model. As a result, stored information is managed with user-friendly graphical interface integrated in VO CSLabGrid infrastructure. **Conclusions.** Using CSMoDB database, established as the part of VO CSLabGrid infrastructure, it was created repository tubulin 3d-models of different taxonomic origin. The models belong to a wide group of parasitic organisms, their potential hosts, as well as a number of model organisms. Such repository not only enables easy data management, but also allows repeated application of tubulin models in new projects of VO CSLabGrid. Now, stored in CSMoDB models actively used by VO CSLabGrid participants in fundamental investigations as well as in projects, related to applied projects on design of new anti-microtubule agents.

Keywords: protein structures database, cytoskeleton proteins, tubulins.